

## **Raport Științific de Etapă (*in extenso*)**

al proiectului

### **Descifrând misterul din spatele aderenței puternice a polidopaminei: o abordare originală bazată pe introducerea de markeri izotopici locali**

Cod proiect PN-III-P4-ID-PCE-2020-1463, Contract de Finanțare nr. PCE 201 / 23.02.2021

**Etapa 2 / 2022: Caracterizarea interacțiunii PDA – substrat**

## Descrierea științifică și tehnică

Pentru îndeplinirea obiectivelor propuse, în cadrul etapei nr. 2 de implementare am desfășurat, în conformitate cu planul de lucru al proiectului, următoarele **activități**:

### A2.1 Fabricarea de compozite PDA marcate izotopic – SiO<sub>2</sub>.

În cadrul acestei activități s-a urmărit obținerea unor nanocompozite PDA@SiO<sub>2</sub> având un strat de PDA marcată cu <sup>2</sup>H cât mai subțire. Obținerea unui strat de PDA depus pe nanoparticule (NP) de SiO<sub>2</sub> cât mai subțire este importantă deoarece investigarea interacțiunii PDA – suprafața SiO<sub>2</sub> prin RMN-s necesită reducerea cât mai mult a semnalului RMN corespunzător PDA bulk.

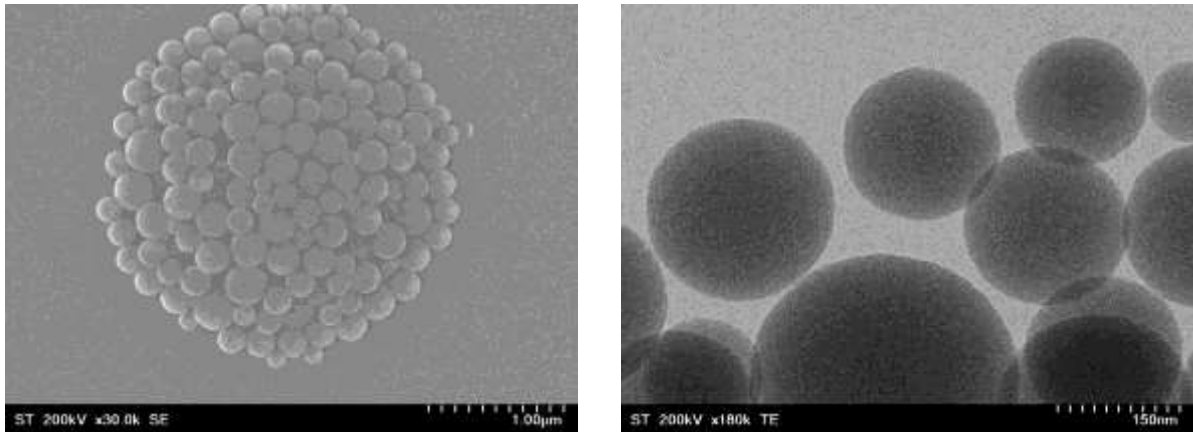
Intr-o primă etapă, folosind nanoparticule (NP) de SiO<sub>2</sub> obținute prin protocolul experimental optimizat în Etapa I, au fost preparate patru sisteme PDA@SiO<sub>2</sub>, testându-se influența timpilor de depunere și a tipului de agent de oxidare asupra grosimii stratului de PDA nemarcată izotopic depus pe NP de SiO<sub>2</sub>. Procedura experimentală de preparare a NP de SiO<sub>2</sub> decorate cu PDA a fost următoare: NP de SiO<sub>2</sub> au fost suspendate în soluție tampon TRIS pH=8.5 și amestecul a fost supus ultrasonării timp de 30 de minute cu scopul de a dispersa nanoparticulele. Apoi a fost adăugat clorhidratul de dopamină și oxidantul (în cazul folosirii NaIO<sub>4</sub>) iar amestecul de reacție a fost supus agitării magnetice (1000 rpm) pentru diferite intervale de timp. Nanoparticulele decorate cu PDA au fost separate din amestecul de reacție prin centrifugare (30 de minute, 4800 rpm) și au fost spălate cu apă distilată (3x 45 mL). Detaliile experimentale sunt prezentate în Tabelul 1.

**Tabel 1.** Detalii experimentale ale obținerii sistemelor PDA@SiO<sub>2</sub>

Cod experiment	Oxidant	Cantitate oxidant (mg)	Cantitate NP SiO <sub>2</sub> (mg)	Cantitate dopamine (mg)	Volum TRIS pH = 8.5 (mL)	Timp de reacție (h)
NPD 5	O <sub>2</sub>	- <sup>a</sup>	60	60	30	1
NPD 6	O <sub>2</sub>	- <sup>a</sup>	60	60	30	2
NPD 7	NaIO <sub>4</sub>	135.34	60	60	30	1/2
NPD 8	NaIO <sub>4</sub>	135.34	60	60	30	1

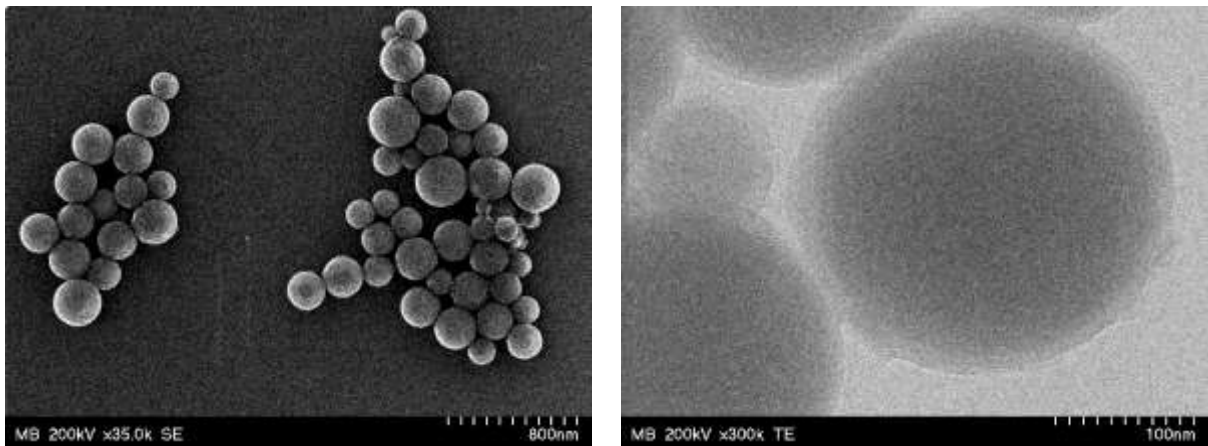
<sup>a</sup> Reacția a avut loc în prezența aerului, neadăugând nici un tip de oxidant

Analiza SEM/TEM a NP de SiO<sub>2</sub> obținute și folosite pentru decorarea cu PDA indică formarea de nanoparticule cu dimensiuni între 100 și 300 nm (Fig.1)



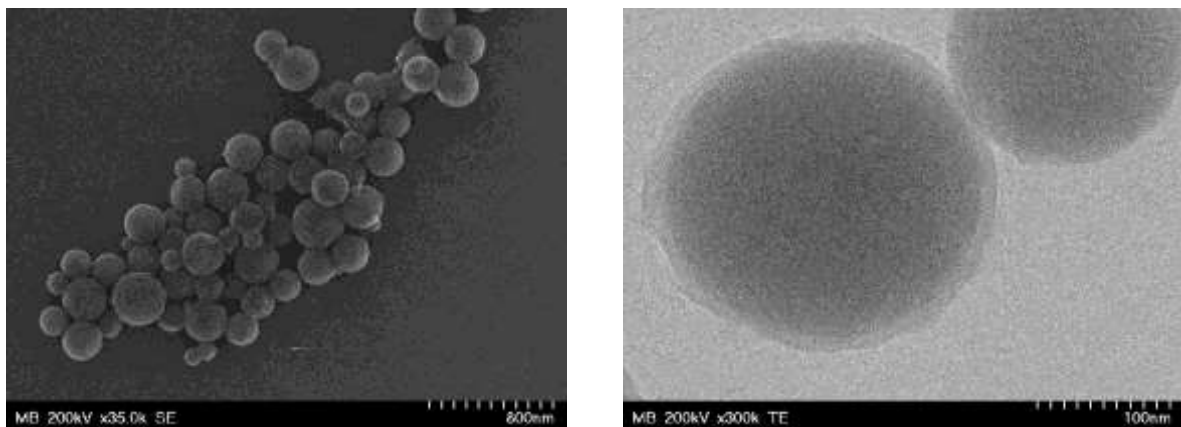
**Fig.1.** Imagini SEM (stânga) și TEM (dreapta) a NP SiO<sub>2</sub>

In cazul probei NPD5, din analiza imaginile SEM/TEM (Fig.2) se observă că PDA s-a depus un strat subțire, relativ uniform, pe nanoparticulele de siliciu și că s-a format o cantitate foarte mică de PDA bulk.



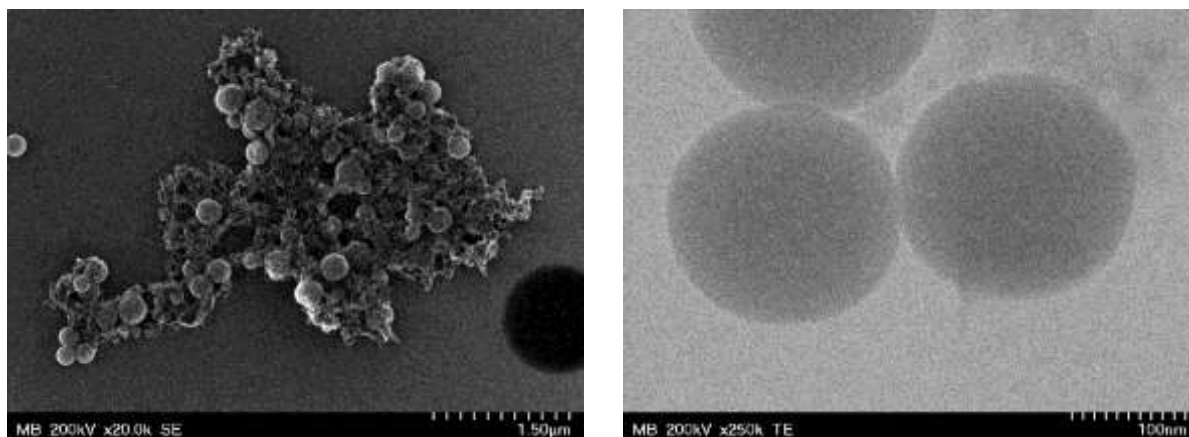
**Fig.2.** Imagini SEM (stânga) și TEM (dreapta) ale probei NPD5

Imaginile SEM/TEM ale probei NPD6 din Fig.3 prezintă depunerea unui strat mai gros și mai neuniform de PDA, comparativ cu proba NPD5, precum și formarea unei cantități mici de PDA bulk.

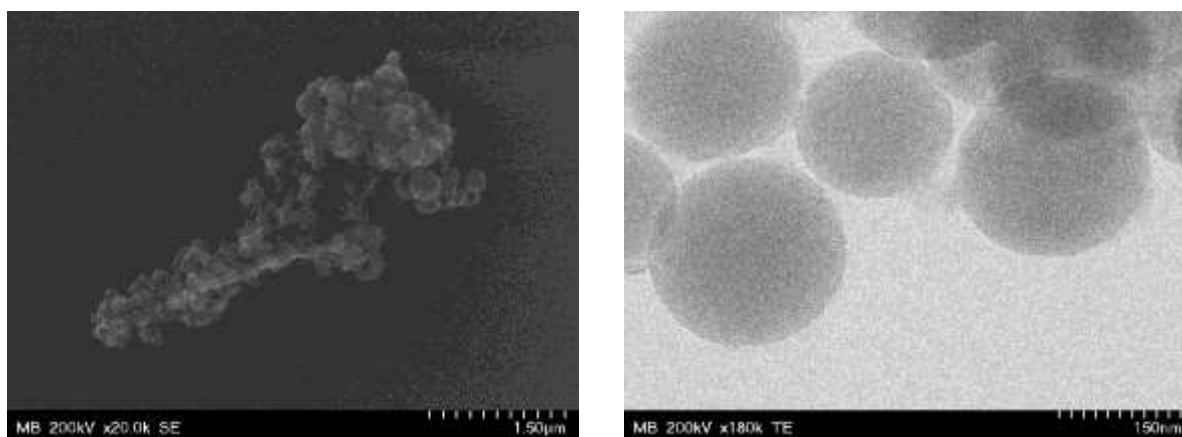


**Fig.3.** Imagini SEM (stânga) și TEM (dreapta) ale probei NPD6

Spre deosebire de probele NPD5 și NPD6, în cazul probelor NPD7 și NPD8, pentru obținerea cărora s-a folosit ca și agent de oxidare  $\text{NaIO}_4$ , s-a constatat formarea unei cantități însemnate de PDA bulk, chiar și la timpi de reacție de doar 0.5 ore – NPD7 (Fig.4 și Fig.5). În plus, NP de  $\text{SiO}_2$  sunt acoperite foarte puțin cu PDA, unele nefiind acoperite deloc.

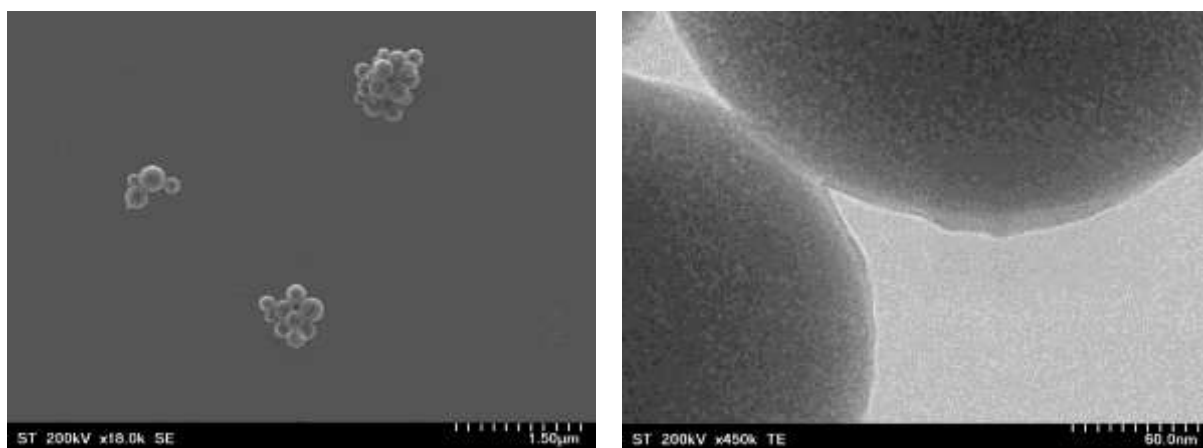


**Fig.4.** Imagini SEM (stânga) și TEM (dreapta) ale probei NPD7



**Fig.5.** Imagini SEM (stânga) și TEM (dreapta) ale probei NPD8

În urma analizei SEM/TEM a acestor probe investigate (NPD 5-8), în vederea obținerii unor nanoparticule acoperite cu un strat cât mai subțire de PDA și fără urme de PDA bulk în probă, s-a încercat o polimerizare folosind același protocol experimental ca în cazul probelor NPD5-8, cu agent oxidant aerul și un timp de reacție scurt, de 0.5 h. Imaginile SEM/TEM ale probei astfel obținute (NPD11) sunt prezentate în Fig. 6.



**Fig.6.** Imagini SEM (stânga) și TEM (dreapta) ale probei NPD11

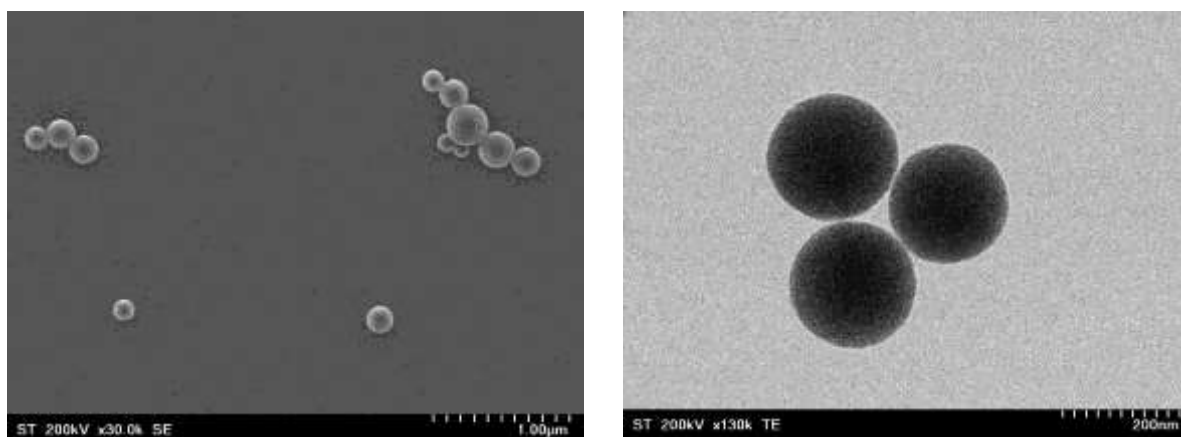
Tinând cont de rezultatele obținute pentru probele NPD5-8, respectiv NPD11 s-au preparat două sisteme PDA@SiO<sub>2</sub> folosind dopamină marcată cu <sup>2</sup>H. Protocolul experimental este identic cu cel folosit în cazul sistemelor NPD5-8, respectiv NPD11, detaliile experimentale fiind sintetizate în Tabelul 2.

**Tabel 2.** Detalii experimentale ale obținerii sistemelor PDA@SiO<sub>2</sub> cu PDA marcată izotopic cu <sup>2</sup>H

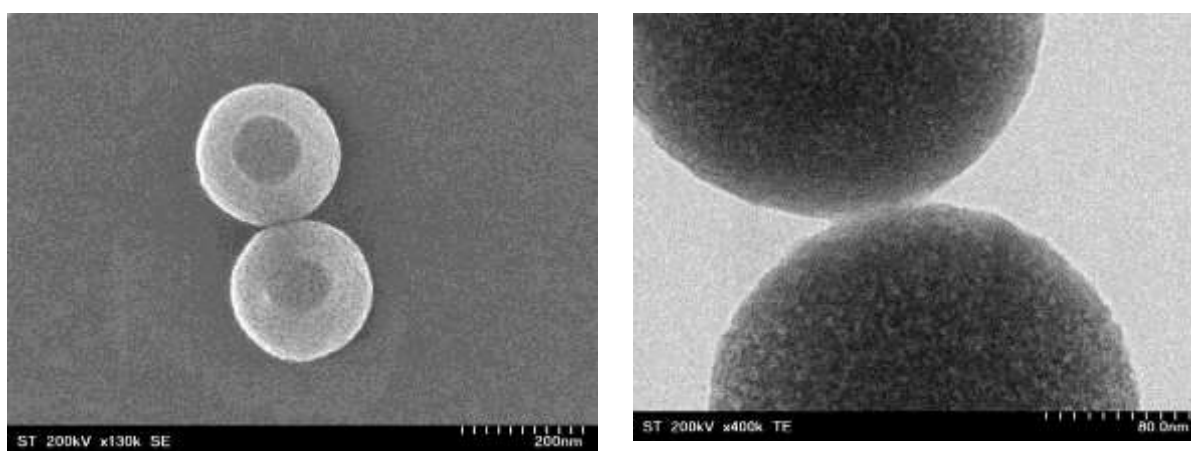
Cod experiment	Oxidant	Cantitate oxidant (mg)	Cantitate NP SiO <sub>2</sub> (mg)	Cantitate dopamină marcată cu <sup>2</sup> H (mg)	Volum TRIS pH = 8.5 (mL)	Timp de reacție (h)
NPD 12	O <sub>2</sub>	- <sup>a</sup>	100	100	50	1/2
NPD 13	O <sub>2</sub>	- <sup>a</sup>	100	100	50	1

<sup>a</sup> Reacția a avut loc în prezența aerului

Imaginile SEM/TEM ale acestor probe marcate izotopic cu <sup>2</sup>H sunt prezentate în Fig. 7, respectiv Fig.8. În cazul ambelor probe stratul PDA marcat izotopic depus este foarte subțire, sub limita de detecție prin această tehnică. Chiar dacă în cazul NPD13 imaginea TEM (Fig.8) prezintă o margine foarte luminoasă la suprafața nanoparticulei nu se poate afirma cu certitudine dacă este PDA depus sau un artefact.



**Fig.7.** Imagini SEM (stânga) și TEM (dreapta) ale probei NPD12

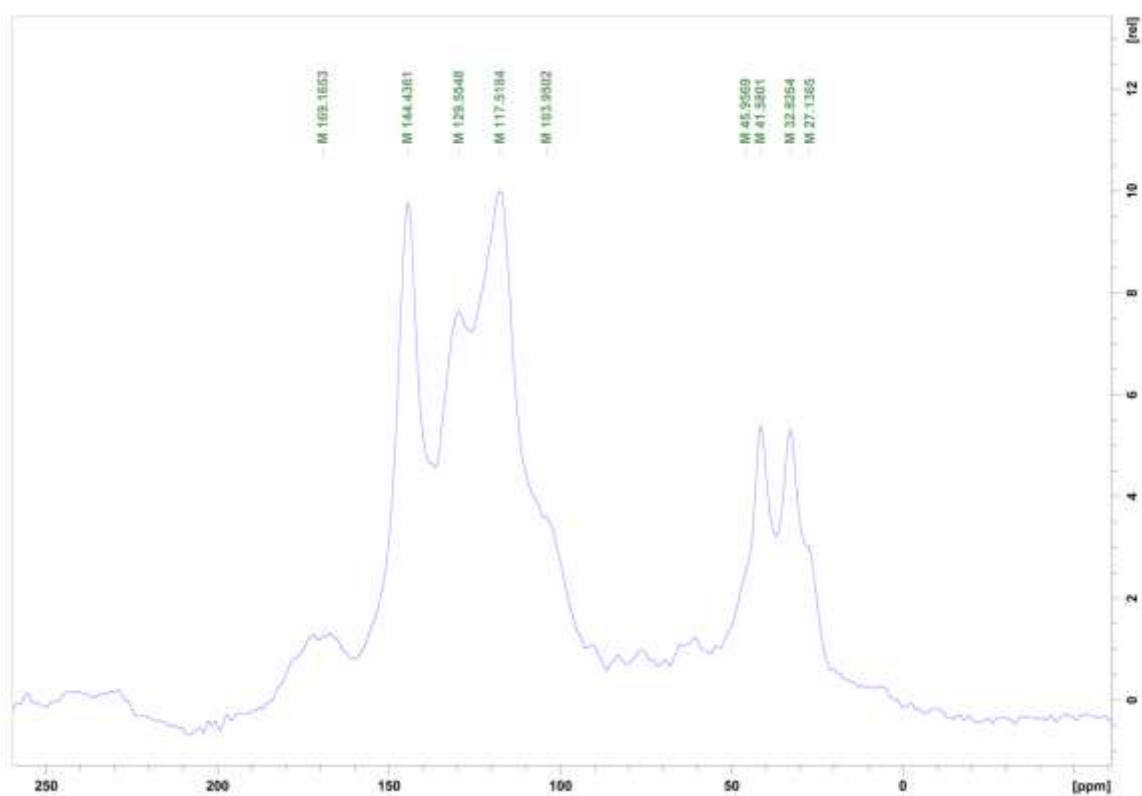


**Fig.8.** Imagini SEM (stânga) și TEM (dreapta) ale probei NPD13

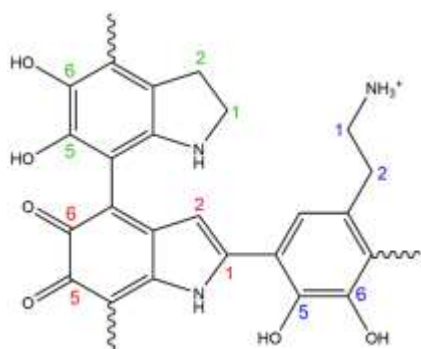
## A2.2 Caracterizarea interacțiunii PDA – substrat prin spectroscopie RMN pe solide.

În cadrul acestei activități s-au caracterizat prin spectroscopie RMN pe solide probele NPD8, NPD9 și NPD12, utilizând secvențele de pulsuri  $^{13}\text{C}$  CP-MAS (Cross-Polarization under Magic-Angle-Spinning) la o rotație a probei de 14 kHz și respectiv  $^2\text{H}$  Spin-Echo, la o rotație de 10 kHz. Aceste experimente ne-au permis să monitorizăm efectul grosimii stratului de PDA deasupra spectrului  $^{13}\text{C}$  CP-MAS al polidopaminei (prin comparația dintre probele NPD8 și NPD9), și de asemenea efectul substituției izotopului  $^1\text{H}$  cu  $^2\text{H}$  de pe inelul catecholic din monomerul de plecare, dopamina.

Principalele rezultate și concluzii ale acestor studii experimentale sunt redată în continuare. În Fig. 9 pentru referință este prezentat spectrul  $^{13}\text{C}$  CP-MAS al polidopaminei în bulk. Atribuirea peak-urilor spectrale pozițiilor de carbon din diferite unități structurale presupuse a exista în lanțurile oligomerice este prezentată în Fig. 10. Figura 11 prezintă spectrele  $^{13}\text{C}$  CP-MAS al stratului de polidopamină pe nanoparticule de  $\text{SiO}_2$  la timpuri de depunere de  $\frac{1}{2}$  și 1 oră. Se remarcă scăderea progresivă a raportului semnal / zgomot pe măsură ce grosimea stratului se reduce de la  $\sim 10$  nm la  $\sim 6-7$  nm. Deși aceleași peak-uri RMN se observă în ambele cazuri, care sunt similar cu cele obținute pe polidopamina în bulk, se constată unele modificări în intensitățile relative între cele două cazuri.

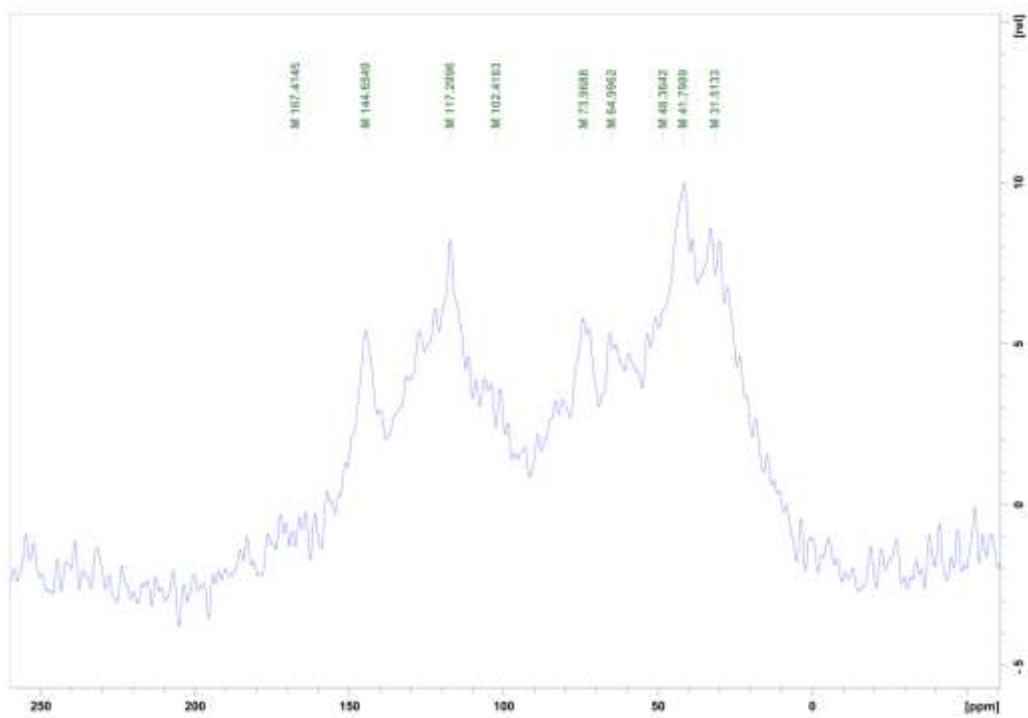
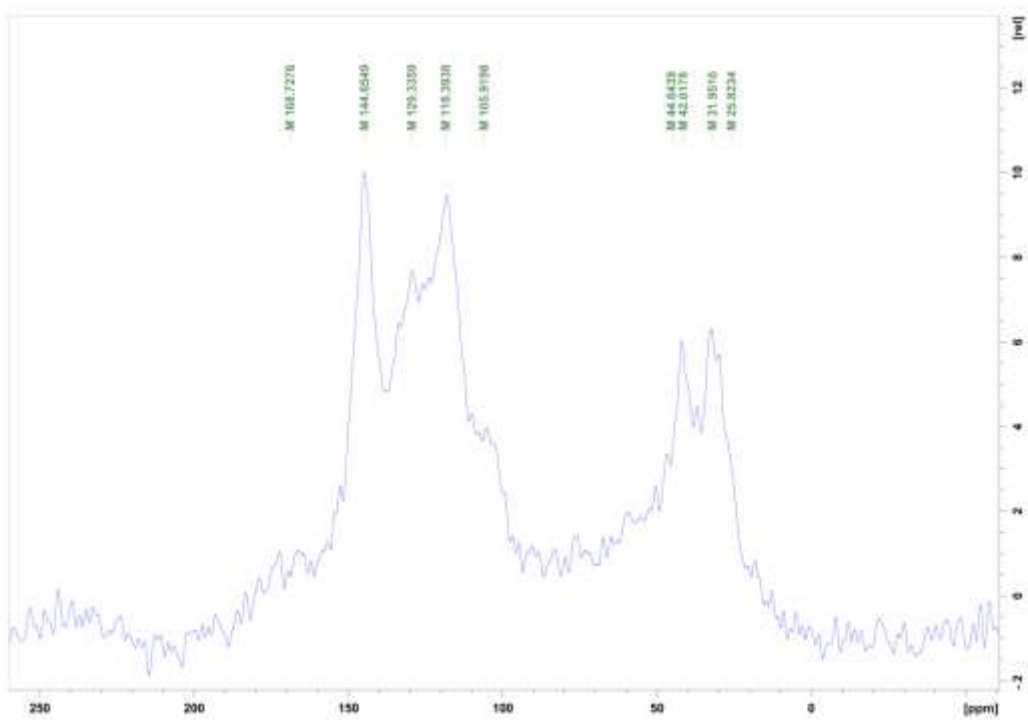


**Fig.9** Spectrul  $^{13}\text{C}$  RMN pe solide al polidopaminei



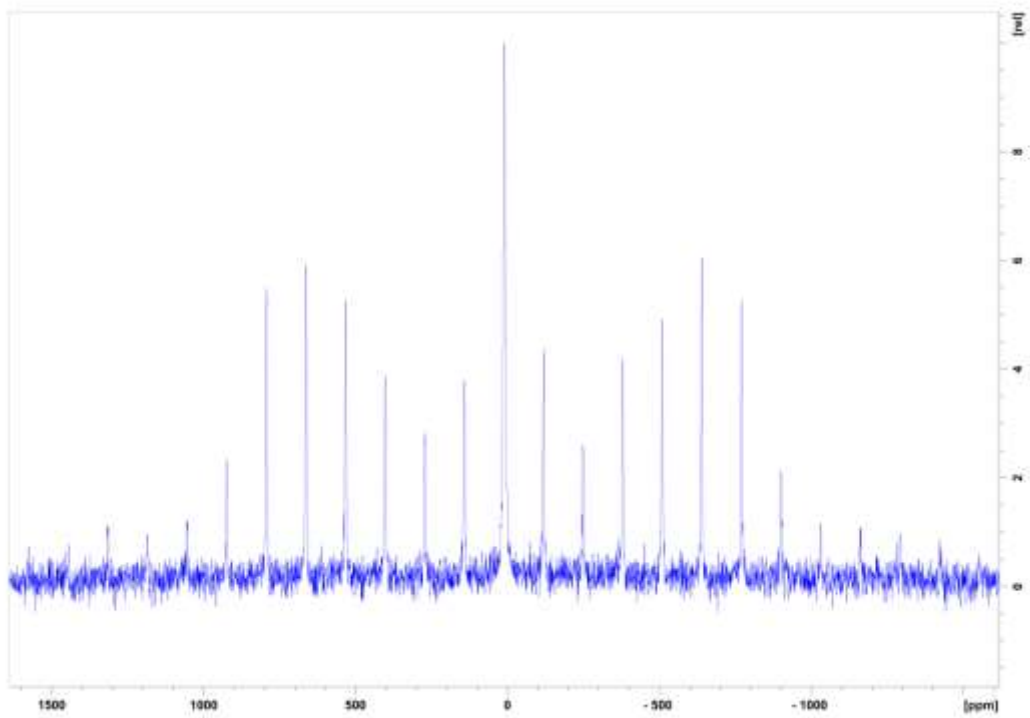
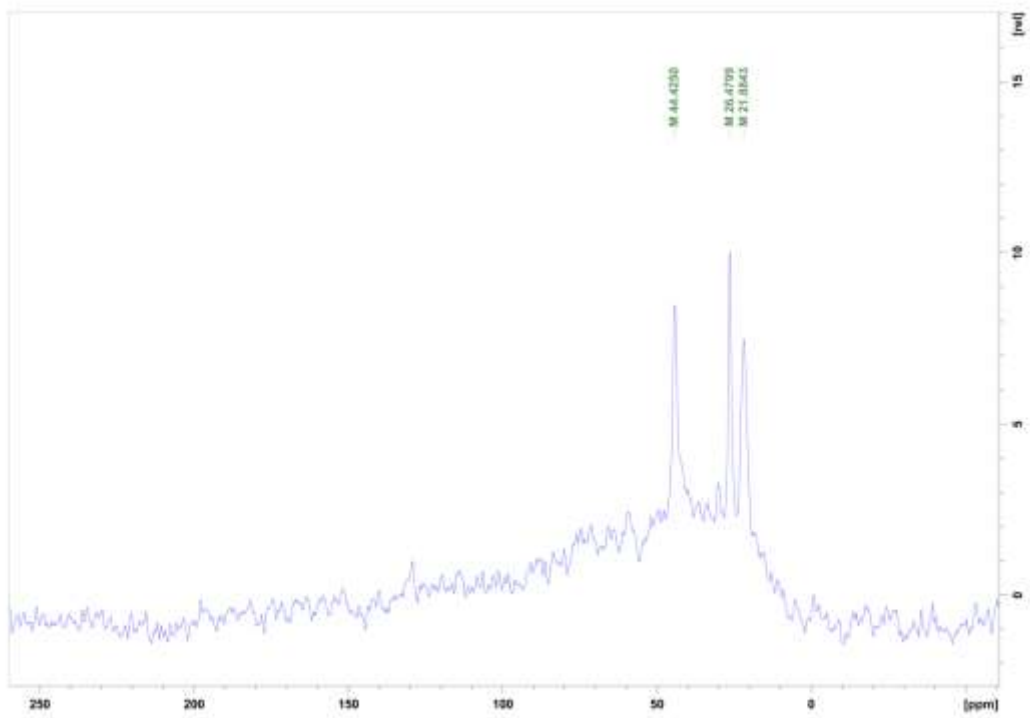
C1 – 41.6 ppm; C1 – 45.9 ppm;  
 C2 – 32.8 ppm; C2 – 27.1 ppm; C2 – 103.9 ppm  
 C5,6 – 144.5 ppm; C5,6 – 169.1 ppm;  
 Ceilalți C aromatici – 117.5 și 129.5 ppm

**Fig.10** Posibile unități oligomerice în structura polidopaminei și atribuirea liniilor spectrale  $^{13}\text{C}$  RMN



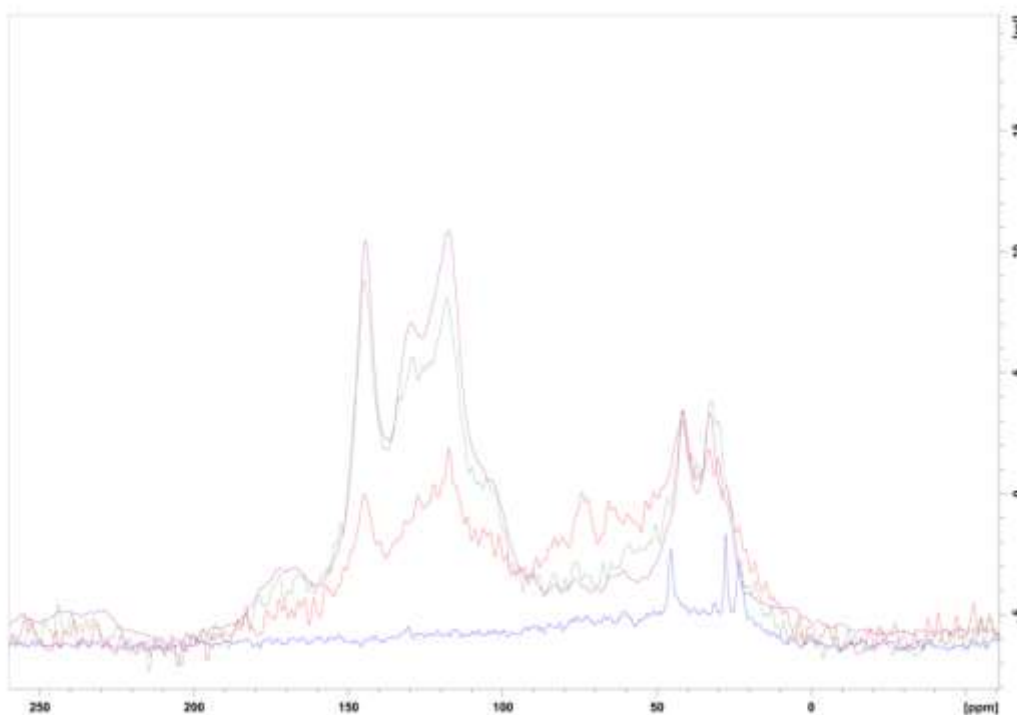
**Fig.11** Spectrele <sup>13</sup>C RMN pe solide ale straturilor de polidopamină de pe nanoparticulele de SiO<sub>2</sub> obținute la ½ h (jos) și 1 h (sus) durate de depunere





**Fig.12** Spectrele  $^{13}\text{C}$  RMN (sus) și  $^2\text{H}$  RMN (jos) pe solide ale stratului de polidopamină de pe nanoparticulele de  $\text{SiO}_2$  la 1/2 h durată de depunere, pornind de la dopamină marcată cu  $^2\text{H}$  la pozițiile inelului cateholic

În Fig. 12 sunt prezentate spectrele  $^{13}\text{C}$  CP-MAS și  $^2\text{H}$  RMN al stratului de polidopamină pe nanoparticule de  $\text{SiO}_2$  obținut la  $\frac{1}{2}$  oră timp de depunere, plecând de la dopamină marcată izotopic cu  $^2\text{H}$  la pozițiile de pe inelul catecholic. Spectrul  $^2\text{H}$  RMN confirmă formarea stratului de polidopamină la suprafața substratului, distribuția de benzi rotaționale observată fiind aproape identică cu cea obținută pe polidopamina în bulk [M. Cîrcu, C. Filip *Polym. Chem.* **9**, (2018) 3379-3387]. Surprinzător este în schimb spectrul  $^{13}\text{C}$  CP-MAS: deși am considerat aceeași durată de depunere de  $\frac{1}{2}$  oră, spectrele  $^{13}\text{C}$  CP-MAS provenite de la polidopamina marcată izotopic (Fig. 12) și cea nemarcată (Fig. 11) prezintă diferențe majore. Proba marcată cu  $^2\text{H}$  dă naștere la trei linii înguste în regiunea alifatică, la 21.9, 26.5 și 44.4 ppm, atipic pentru polidopamină, care este caracterizat de linii  $^{13}\text{C}$  RMN foarte largi. Regiunea aromatică, care dă benzile cele mai intense în spectrul polidopaminei nemarcate, pare să conțină un semnal foarte larg și de intensitate aproape neglijabilă. Acest fapt relevă fie faptul că stratul de polidopamină obținut din dopamina marcată cu  $^2\text{H}$  la pozițiile inelului catecholic este mult mai subțire (datorită unei cinetici mai lente a procesului de oxidare în acest caz), fie o scădere considerabilă a eficienței procesului de cross-polarizare comparativ cu polidopamina nemarcată. Aceste aspecte vor fi investigate suplimentar în etapa următoare.



**Fig.13** Analiză comparativă între spectrele  $^{13}\text{C}$  RMN pe solide înregistrate pe polidopamină în bulk (violet) și pe straturile depuse pe nanoparticulele de  $\text{SiO}_2$  la  $\frac{1}{2}$  h (nemarcat – roșu; marcat izotopic cu  $^2\text{H}$  - albastru) și 1 h (verde) durate de depunere.

În final, Fig. 13 prezintă o analiză comparativă a spectrelor  $^{13}\text{C}$  RMN pe solide a sistemelor analizate în etapa curentă. Este mult mai evident din această figură că efectul scăderii grosimii stratului de polidopamină asupra spectrului  $^{13}\text{C}$  RMN constă în reducerea intensității relative a peak-urilor din regiunea aromatică, comparativ cu cele alifatică. Modul în care acest comportament reflectă interacțiunea dintre polidopamină și substrat va fi analizat în detaliu în etapa următoare.

## Sumar al progresului

### **Rezultate:**

Am obținut nanocompozite PDA@SiO<sub>2</sub> cu caracteristici morfologice controlate (diametrul miezului de SiO<sub>2</sub> și grosimea stratului exterior de polidopamină, în funcție de condițiile de depunere). Am demonstrat că aceste nanocompozite pot fi preparate atât cu polidopamină marcată izotopic în poziții chimice selectate, cât și în varianta nemarcată, și utilizate în investigații RMN pe solide pentru a evidenția interacțiunea dintre lanțurile ologomerice de PDA și suprafața liberă a substratului.

### **Diseminare:**

#### **(1) Articole în reviste cotate ISI**

1. D. Bogdan, I.G. Grosu, A. Moț, C. Filip, "How thick, uniform and smooth are the polydopamine coating layers obtained under different oxidation conditions? An in-depth AFM study" *Appl. Surf. Sci.* 597 (2022) 153680
2. M. Szukowska, Ł. Popena, E. Coy, C. Filip, J. Grajewski, M. Kempinski, Y. Kim, R. Mrówczyński "Replacing amine by azide: dopamine azide polymerization triggered by sodium periodate" *Polym. Chem.* **13** (2022) 3325-3334

#### **(2) Comunicări la conferințe științifice**

1. D. Bogdan, I.G. Grosu, M. Bocăneală, C. Filip "Polydopamine coatings morphology on spherical nanoparticles vs flat substrates" *Advances in Applied Physics & Materials Science Congress – 12th APMAS-22*, Oludeniz, Turkey
2. C. Filip, I.G. Grosu, A. Petran, M. Bocăneală, C. Lar, X. Filip "Study of polydopamine strong adhesion by solid-state NMR" *Advances in Applied Physics & Materials Science Congress – 12th APMAS-22*, Oludeniz, Turkey

#### **(3) Pagina web a proiectului, <https://www.itim-cj.ro/PNCDI/izopda/> - actualizare**

Director Proiect,

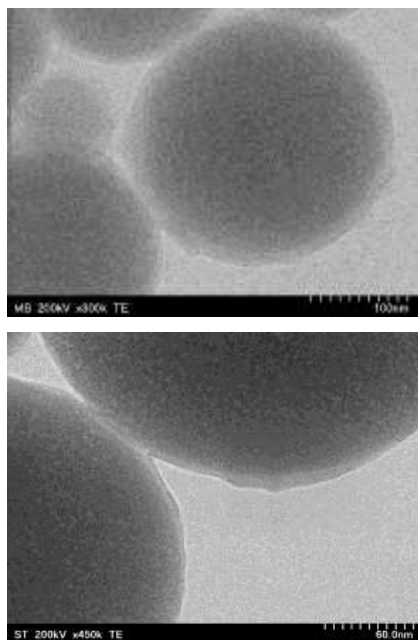
Dr. Claudiu Filip



## Rezumat al etapei

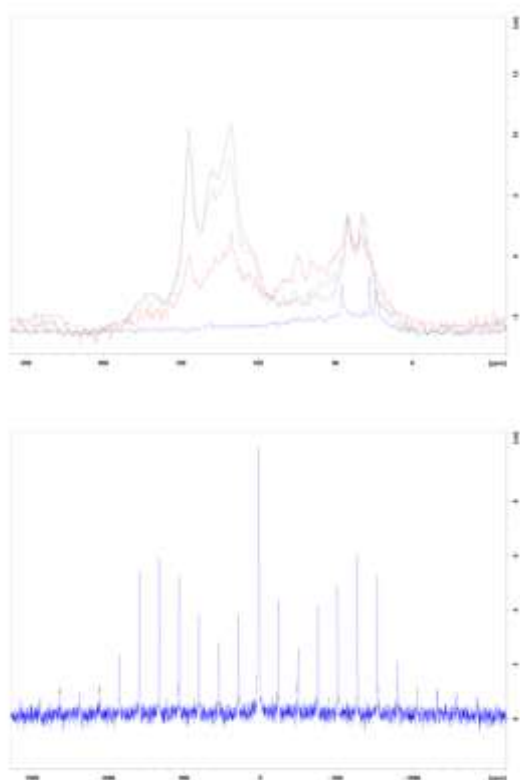
Pentru îndeplinirea obiectivelor propuse, în cadrul etapei nr. 2 de implementare am desfășurat, în conformitate cu planul de lucru al proiectului, următoarele **activități**:

### A2.1 Fabricarea de compozite PDA marcate izotopic – SiO<sub>2</sub>.



Am obținut nanocompozite PDA@SiO<sub>2</sub> cu caracteristici morfologice controlate (diametrul miezului de SiO<sub>2</sub> și grosimea stratului exterior de polidopamină, în funcție de condițiile de depunere). De exemplu, în condiții standard de oxidare la pH 8.5, utilizând timp de depunere de ½ h și 1 h se obțin grosimi ale stratului de PDA de 5-7, respective 10 nm. Am demonstrat că aceste nanocompozite pot fi preparate atât cu polidopamină marcată izotopic în poziții chimice selectate, cât și în varianta nemarcată, și utilizate în investigații RMN pe solide.

### A2.2 Caracterizarea interacțiunii PDA – substrat prin spectroscopie RMN pe solide.



În urma investigațiilor RMN pe solide efectuate atât pe probe marcate izotopic, cât și nemarcate, am obținut că: (i) efectul scăderii grosimii stratului de polidopamină asupra spectrului <sup>13</sup>C RMN constă în reducerea intensității relative a peak-urilor din regiunea aromatică, comparativ cu cele alifatică și (ii) acest comportament este determinat de interacțiunea dintre polidopamină și substrat și va fi analizat în detaliu în etapa următoare.

